

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Kanker

Kanker adalah suatu penyakit dimana terjadi pertumbuhan sel tubuh yang tidak normal atau tidak terkontrol. Pertumbuhan sel kanker berbeda dari normal. Sel tubuh yang seharusnya mengalami kematian, justru tumbuh dan membelah secara terus-menerus pada sel kanker. Sel kanker juga dapat menyebar di dalam tubuh melalui sistem darah dan limfa sehingga dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan dan organ lain. Proses penyebaran ini disebut metastasis (NCI, 2013). Sel normal dapat berubah menjadi sel kanker disebabkan karena adanya kerusakan pada *Deoxyribonucleic Acid (DNA)*. Pada sel normal, DNA yang rusak akan segera mengalami perbaikan atau terjadi proses kematian sel. Namun pada sel kanker, DNA yang rusak tidak mengalami perbaikan sehingga sel tidak mengalami kematian seperti yang seharusnya. Sel tersebut mampu membelah secara terus menerus menghasilkan sel baru yang juga memiliki kerusakan DNA yang sama (ACS, 2013).

Menurut data WHO (2008), kanker merupakan penyebab utama kematian di dunia yaitu sebesar 7,6 juta (sekitar 13% dari semua kematian) pada tahun 2008. Sedangkan di Indonesia jumlah kematian disebabkan oleh kanker sebanyak 245 per 100.000 kematian.

2.2 Kanker Payudara

2.2.1 Definisi

Kanker payudara adalah *malignant tumor* (tumor yang berbahaya) yang berasal dari sel-sel pada jaringan payudara. *Malignant tumor* adalah sekelompok sel kanker yang dapat tumbuh, menyebar, dan merusak jaringan-jaringan yang berada di sekitarnya hingga ke organ-organ yang jauh sekalipun. Terdapat beberapa macam kanker payudara, diantaranya sebagai berikut (ACS, 2013):

1) Karsinoma Duktus In Situ

Karsinoma duktus in situ (DCIS) terjadi jika sel-sel disepanjang duktus (saluran) telah berubah menjadi sel kanker. Pada DCIS, sel kanker belum menyebar melalui dinding duktus ke jaringan sekitar jaringan payudara. Namun pada beberapa kasus, seiring waktu pada akhirnya akan menjadi kanker invasif (dapat menyebar).

2) Karsinoma Duktus Invasif

Karsinoma duktus invasif (DCI) merupakan tipe kanker payudara yang paling banyak ditemui. DCI bermula pada saluran susu payudara, kemudian menembus dinding duktus, tumbuh pada jaringan lemak payudara dan dapat menyebar ke bagian tubuh yang lain melalui sistem limfa dan sirkulasi darah.

3) Karsinoma Lobular In Situ

Karsinoma lobular in situ bukanlah kanker yang sebenarnya atau bisa disebut juga pre-kanker.

4) Karsinoma Lobular Invasif

Karsinoma Lobular Invasif (ILC) bermula pada kelenjar yang memproduksi susu. ILC juga dapat menyebar ke bagian tubuh yang lain.

2.2.2 Epidemiologi

Menurut data WHO pada tahun 2000-2011, kanker payudara memiliki rata-rata insiden dan mortalitas tertinggi pada wanita di Indonesia. Kanker payudara memiliki insiden sebesar 25,5%, mortalitas sebesar 19,2% dan prevalensi selama 5 tahun sebesar 36,9% (Globocan, 2008).

American Cancer Society (2013), memperkirakan pada tahun 2013 terdapat sekitar 232.340 kasus baru kanker payudara invasif, 64.640 kanker payudara in situ, dan 40.030 kematian akibat kanker payudara (39.620 wanita dan 410 pria). Hingga saat ini, kanker payudara menjadi penyebab kematian pada wanita dengan prevalensi tertinggi ke-dua setelah kanker paru-paru.

2.2.3 Faktor Resiko

Menurut *American Cancer Society* (2013), faktor yang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara diantaranya, jenis kelamin wanita. Wanita memiliki faktor resiko yang lebih besar daripada pria, walaupun pria juga memiliki kemungkinan untuk mengalami kanker payudara. Kemungkinan besar hal ini disebabkan karena wanita memiliki hormon estrogen dan progesteron yang lebih banyak daripada pria, dimana hormon tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan sel kanker payudara (Dipiro, 2008). Selain jenis kelamin, insiden kanker payudara juga dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Terutama ketika usia sudah mencapai ≥ 50 tahun Riwayat kanker payudara pada keluarga juga menjadi salah satu faktor resiko yang sangat kuat. Resiko terjadinya kanker payudara dapat 1,5 hingga 3 kali lipat lebih tinggi daripada wanita tanpa riwayat kanker payudara dalam

keluarga. Selain itu, adanya riwayat kanker payudara sebelumnya, dapat meningkatkan resiko hingga 3- 4 kali lebih tinggi untuk terserang kanker payudara baru (Dipiro, 2008).

Sedangkan menurut Chisholm-Burns (2008), faktor resiko dari kanker payudara di bagi menjadi tiga yaitu faktor endokrin, faktor genetik, dan faktor lingkungan dan gaya hidup. Faktor endokrin berkaitan dengan durasi masa subur wanita dalam hidupnya (sebelum menopause). Jika waktu menstruasi pertama (*menarche*) terlalu dini (sebelum usia 12 tahun), maka dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Begitu pula pada wanita yang mengalami masa *menopause* yang terlambat (usia ≥ 55 tahun) dan kehamilan pertama yang terlambat (≥ 30 tahun) serta pada wanita yang menggunakan terapi pengganti hormon (HRT) dalam jangka panjang. Faktor genetik berkaitan dengan adanya ketidaknormalan pada gen BRCA1 pada kromosom 17 dan BRCA2 pada kromosom 13 dikarenakan adanya mutasi genetik. Kedua gen ini merupakan supresor tumor. Sedangkan faktor lingkungan dan gaya hidup salah satunya adalah akibat konsumsi makanan tinggi kalori, dan lemak yang berlebihan. Sehingga terjadi obesitas pada wanita akibat penumpukan lemak di daerah sekitar perut. Selain itu merokok dan mengkonsumsi alkohol juga dapat meningkatkan resiko kanker payudara.

2.2.4 Patofisiologi

Kemungkinan besar, kanker terjadi akibat adanya mutasi DNA sehingga menyebabkan pembelahan sel yang tidak terkontrol. Karsinogen adalah substansi yang dapat menyebabkan kanker. Karsinogen dapat berupa zat- zat

kimia, radiasi, virus, hormonal, maupun genetik. Karsinogenesis dikarenakan mutasi materi genetik ini menyebabkan pembelahan sel yang tidak terkontrol sehingga menjadi sel kanker. Namun mutasi ini hanya terjadi pada gen tertentu saja yang dapat mengakibatkan sel mengalami proliferasi berlebihan. terdapat dua proses transformasi yang dialami oleh sel. Pertama adalah proses inisiasi dimana mulai terjadi perubahan genetik akibat karsinogen. Ke dua, adalah proses promosi dimana sel akan berubah menjadi ganas dengan melakukan proliferasi secara terus menerus. Pada kanker payudara, terjadi proliferasi sel epitel duktus atau lobus payudara. Pada awalnya merupakan hiperplasia sel, namun kemudian dapat berlanjut menjadi karsinoma in situ dan menginvasi stroma (Mitchell, 2006).

Gen yang berperan dalam mengalami mutasi adalah gen BRCA-1 dan BRCA-2. Resiko terjadinya kanker payudara pada wanita meningkat jika dia mewarisi mutasi genetik pada gen BRCA-1 atau BRCA-2. Begitu pula pada pria, mutasi pada salah satu atau keduanya pada gen tersebut dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Gen BRCA-1 dan BRCA-2 merupakan gen pada manusia yang memproduksi protein suppressor tumor. Protein tersebut membantu memperbaiki kerusakan DNA dan menjamin stabilitas material genetik sel. Gen BRCA-1 berada pada kromosom lokus 17p21. Sedangkan gen BRCA-2 berada pada kromosom 13q12. Jika salah satu atau kedua gen tersebut mengalami mutasi atau berubah, misalnya jika protein suppressor tumor tidak diproduksi atau tidak dapat berfungsi dengan semestinya, maka kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki. Sehingga sel terus mengalami pembelahan menghasilkan sel-sel baru yang juga mengalami perubahan genetik dan kerusakan DNA yang

pada akhirnya terjadi kanker. Mutasi spesifik pada BRCA-1 dan BRCA-2 akan meningkatkan resiko kanker payudara dan ovarium pada wanita (NCI, 2013).

2.2.5 Terapi

Terapi untuk kanker payudara umumnya adalah rangkaian pengobatan meliputi pembedahan, kemoterapi, terapi hormon, terapi radiasi, dan yang terbaru adalah terapi antibodi monoklonal. Metode pengobatan yang dipilih tergantung dari jenis kanker dan stadium penyakitnya dengan tujuan untuk memusnakan dan menghambat pertumbuhan dan penyebaran kanker serta menghilangkan gejala yang dialami pasien. Sebelum dilakukan pembedahan, pasien kanker payudara diberikan terapi sistemik primer. Pembedahan yang dilakukan bergantung pada stadium penyakit, jenis tumor, umur, dan kondisi pasien. Efek samping yang mungkin timbul dari operasi adalah nyeri. Beberapa wanita memiliki masalah nyeri neuropatik pada dada, ketiak dan lengan yang tidak kunjung reda setelah dilakukan pembedahan. Nyeri ini dapat diterapi menggunakan obat-obatan yang ditujukan untuk antinyeri yang dapat berefek pada nyeri syaraf. Selain itu juga dapat timbul efek samping seperti pembengkakan sementara, pendarahan, dan infeksi (ACS, 2013).

Umumnya pembedahan diikuti dengan pemberian terapi tambahan (adjuvan) yaitu radiasi dengan sinar-X intensitas tinggi untuk membunuh sel kanker. Tujuannya untuk mengurangi kemungkinan kanker akan kembali lagi pada payudara maupun nodus limfa terdekat. Radiasi setelah pembedahan juga direkomendasikan untuk pasien dengan area kanker lebih besar dari lima sentimeter, atau ketika kanker ditemukan pada nodus limfa. Radiasi juga

digunakan pada kanker yang telah menyebar ke area lain, seperti tulang ataupun otak. Efek samping pada kulit berupa gatal, kemerahan, dan kulit kering. Selain itu juga dapat diberikan terapi anti-estrogen seperti tamoxifen, dan raloxifen dengan tujuan menghambat efek estrogen. Efek samping yang mungkin muncul adalah kanker endometrium, terjadi penggumpalan darah di paru-paru dan kaki. Terdapat pula golongan romatase inhibitor seperti anastrozole, letrozole, dan exemestane yang bekerja dengan menghambat dibentuknya estrogen. Sedangkan terapi dengan obat kemoterapi diantaranya, doxorubicin, docetaxel, cyclophosphamide, dan Carboplatin (ACS, 2013).

2.3 Sel MCF-7

Se MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*) merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian *in vitro* dikarenakan sel tersebut memiliki bentuk yang terbaik dari semua jenis sel kanker payudara pada manusia. Sel ini menyerupai sel epitel dan tumbuh secara *monolayer*. Sel MCF-7 berasal dari jaringan payudara wanita Kaukasia 69 tahun bergolongan darah O, dengan Rh positif yang diambil dari tempat efusi pleural metastase kanker payudara. Sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik yaitu, mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), memiliki sifat adhesi yang kuat antar sel. Sel MCF-7 dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) atau *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) yang mengandung *foetal bovine serum* (FBS) 10% dan antibiotik Penicillin- Streptomycin 1% (Deborah *et al*, 2011).

2.4 Apoptosis

Apoptosis adalah suatu mekanisme kematian sel yang telah terprogram melalui serangkaian perubahan struktural sebagai hasil dari rangsangan fisiologis atau patologis. Apoptosis berperan dalam kematian sel-sel yang telah rusak, ataupun terinfeksi. Umumnya dibutuhkan beberapa jam dari inisiasi kematian sel hingga fragmentasi seluler akhir. Waktu yang dibutuhkan bergantung pada tipe sel, stimulus, dan jalur apoptosis. Tanda-tanda apoptosis secara morfologi di inti sel adalah adanya kondensasi kromatin di inti sel, dan diikuti dengan terjadinya penurunan volume intraselular (*pyknosis*). Kondensasi kromatin membentuk struktur seperti bulan sabit. Kromatin terus terkondensasi hingga pecah di dalam sel. Pada seluruh proses tersebut membran masih dalam keadaan utuh. Namun pada tahap apoptosis berikutnya terjadi kerusakan membran, modifikasi ultrastruktural organel sitoplasma dan hilangnya integritas sel. Secara luas, tiga tipe utama perubahan biokimia yang dapat diamati pada apoptosis yaitu, 1) aktivasi *caspase* (golongan enzim yang termasuk dalam famili *cysteine protease*), 2) kerusakan DNA dan protein dan 3) perubahan membran dan pengenalan oleh sel fagosit (Wong, 2011).

Kerusakan DNA dapat terjadi akibat kondisi stres baik karena senyawa toksik, maupun radiasi. Selain itu, apoptosis juga berperan dalam homeostasis. Homeostatis merupakan kondisi keseimbangan yang dibutuhkan oleh tubuh. Oleh karena itu, keseimbangan antara proliferasi sel dan apoptosis juga dibutuhkan. Mekanisme kerja apoptosis terdiri dari empat tahap yaitu, 1) induksi *signal* apoptosis 2) integrasi atau pengaturan 3) terjadi apoptosis (degradasi DNA, kematian sel) 4) fagositosis. *Signal* yang menginduksi apoptosis dapat

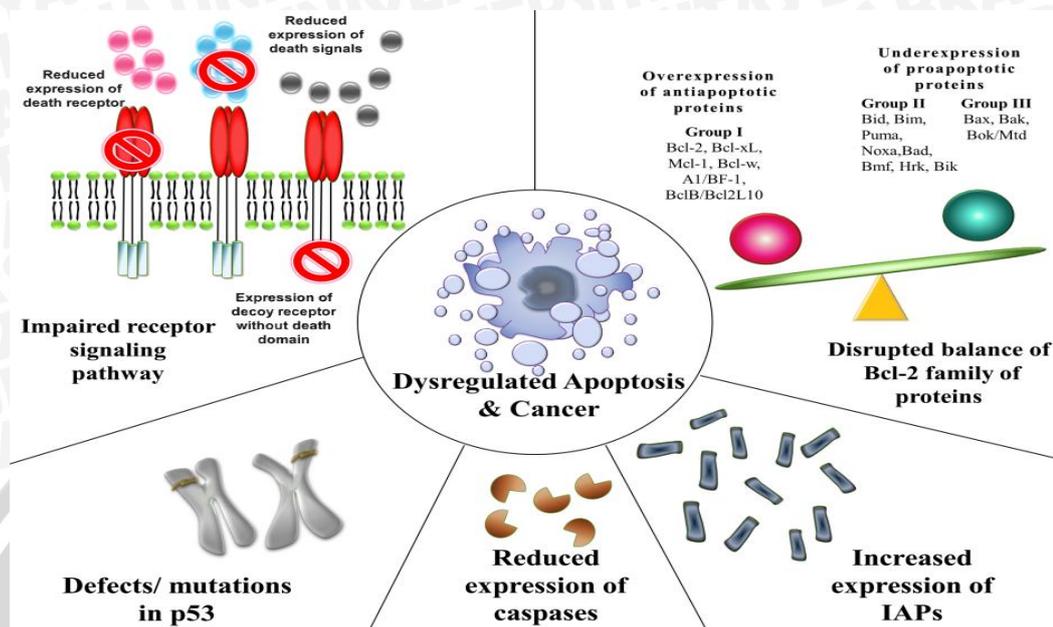
berasal dari ekstraselular seperti induksi oleh hormon tiroksin, menurunnya produksi *grow factor* dan berasal dari intraselular seperti adanya kerusakan akibat stres, dan gangguan siklus sel. Jalur apoptosis ada dua yaitu, jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur intrinsik dinisiasi oleh sinyal yang berasal dari mitokondria dan terjadi pelepasan sitokrom C, sedangkan jalur ekstrinsik diinisiasi oleh reseptor kematian sel. (ASL, 2010).

Jalur intrinsik dimediasi melalui mitokondria yang distimulus oleh berbagai rangasangan internal seperti kerusakan genetik yang tidak diperbaiki, toksin, radiasi, hipoksia, stres oksidatif, reperfusi iskemi, dan kerusakan DNA. Jalur ini terjadi sebagai hasil dari meningkatnya Permeabilitas Membran Luar Mitokondria Mitokondria (MOMP) dan pengeluaran molekul pro-apoptosis seperti sitokrom-c ke sitoplasma. Jalur ini diregulasi oleh kelompok protein termasuk famili *B lymphocytic-leukemia proto-oncogene* yang disebut gen Bcl-2. Terdapat dua kelompok utama protein Bcl-2. Yang disebut dengan protein pro-apoptosis (Bax, Bid, dan Bik) dan protein anti-apoptosis (Bcl-2, dan Bcl-XL). Protein anti-apoptosis berfungsi meregulasi apoptosis dengan memblok pengeluaran sitokrom-c dari mitokondria. Sedangkan protein pro-apoptosis bekerja dengan memicu pengeluaran sitokrom-c dari mitokondria. Keseimbangan antara dua kelompok protein tersebut, berperan dalam menentukan terjadi atau tidaknya apoptosis. Faktor apoptosis lain yang dikeluarkan dari ruang antar membran mitokondria ke sitoplasma adalah AIF (Wong, 2011). Adanya sitokrom-c pada sitoplasma dapat berinteraksi dengan dATP, sehingga akan menginduksi pembentukan apoptosom, yaitu kompleks makromolekuler yang mengandung *Apoptotic protease activation factor-1* (Apaf-1). Kompleks tersebut mengikat dan memicu aktivasi proteolitik *procaspase-9*. *Procaspase-9* kemudian diaktivasi

menjadi *Caspase-9*. *Caspase-9* akan mengikat apoptosom sehingga akan mengaktifasi *caspase-3* dan/atau *caspase-7* (Cecconi, 2010).

Jalur ekstrinsik dimediasi oleh stimulasi reseptor kematian sel (Fas, TNFR1, DR4, dan DR5) yang berikatan dengan ligan kematian sel (FasL, TNF α , TRAIL, TNFSF10). Ikatan tersebut menstimulasi pengikatan protein adaptor (FADD). Protein adaptor FADD mempunyai dua interaksi yaitu domain DD yang berinteraksi dengan domain DD reseptor Fas, dan domain DED yang memfasilitasi pengikatan *procaspase-8* (atau *procaspase-10*) dan pembentukan kompleks *signaling* yang menginduksi kematian (DISC) yang kemudian mengaktifkan *caspase-8* sehingga menyebabkan translokasi menuju mitokondria, pengeluaran sitokrom c, mengaktifasi *caspsase* dan terjadi apoptosis (Cecconi, 2010).

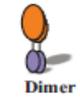
Kanker terjadi sebagai hasil dari serangkaian perubahan genetik yang mengakibatkan sel normal berubah menjadi ganas karena dapat menghindari kematian sel. Hal tersebut menjadi salah satu perubahan penting dalam sel yang menyebabkan transformasi menjadi ganas. Secara umum, mekanisme penghambatan terhadap apoptosis ini dapat digolongkan sebagai berikut, 1) gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis, 2) penurunan fungsi *caspase* dan 3) gangguan *signaling* pada reseptor kematian (Wong, 2011).



Gambar 2.1 Mekanisme penghambatan apoptosis (Wong, 2011).

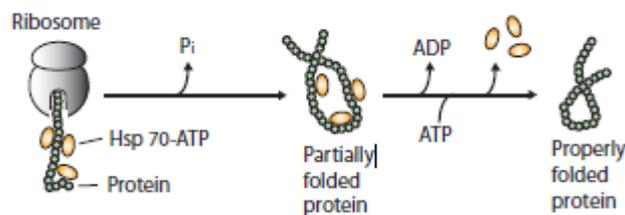
2.5 Heat Shock Protein 70 (Hsp70)

Protein adalah makromolekul yang paling penting dan memegang peranan yang sangat penting dalam menjalankan dan mengatur fungsi sel. Agar protein dapat berfungsi, maka harus memiliki struktur tiga dimensi dengan membentuk lipatan yang tepat. *Chaperon*, yang disebut juga dengan *heat shock protein*, yaitu kelas protein yang ditemukan di semua organisme mulai dari bakteri hingga manusia dan terdapat di setiap kompartemen selular. *chaperon* memiliki peranan paling penting dalam pelipatan protein di hampir semua sel. Terdapat berbagai macam sistem chaperon dengan fungsi khusus masing-masing yang dibedakan berdasarkan konformasi ataupun susunan substrat proteinnya (Bhullar, 2012).

Family	Organism	Chaperones	Location		Function
Hsp100	E.coli S.cervisiae	ClpA, B, C Hsp104	cytosol	 6- to 7-mer	Role in stress tolerance; it helps the resolubilization of heat-inactivated proteins from insoluble aggregates
Hsp90	E.coli S.cervisiae Humans	HtpG Hsp83 Hsp90 GRP94 TRAP1	cytosol cytosol cytosol, nucleus ER mitochondria	 Dimer	Role in signal transduction (e.g., interaction with steroid hormone receptors, tyrosine kinases, serine/threonine kinases); regulation of heat shock response; role in cell cycle and proliferation; maintenance of mitochondrial integrity
Hsc/Hsp70	E.coli S.cervisiae Humans	DnaK Ssa1-4, Ssb1,2 Kar2, Ssc1 Hsc70, Hsp70 BiP, mHsp70	cytosol cytosol ER, mitochondria cytosol, nucleus ER, mitochondria	 Monomer	Roles in lambda phage replication; regulation of heat shock response; interaction with nascent chain polypeptides; functions in interorganellar transport; roles in signal transduction; refolding of denatured proteins <i>in vitro</i> ; roles in cell cycle and proliferation; anti-apoptotic activity; potential antigen-presenting molecule in tumour cells
Hsp60	E.coli S.cervisiae Plants Humans	GroEL/ES Hsp60 Cpn60 Hsp60	cytosol mitochondria chloroplast mitochondria	 14-mer	Roles in folding and stability of denatured protein <i>in vitro</i> ; cofactor in diverse proteolytic systems; role in the assembly of bacteriophages and plant proteins (Rubisco)
Hsp40	E.coli S.cervisiae Humans	dnaJ Ydj1 Hdj1, Hdj2	cytosol cytosol nucleus	 Monomer	Essential co-chaperone for Hsp70 ATPase activity, substrate binding and release
Small Hsps	E.coli Humans	IbpA, IbpB Hsp27 crystallin	cytosol cytosol cytosol	 8- to 24-mer	Inhibition of <i>in vitro</i> protein aggregation and heat inactivation in <i>S. cervisiae</i> ; Role in cell thermotolerance through stabilization of actin microfilaments; anti-apoptotic activity

Gambar 2.2 Nomenklatur, lokasi, dan fungsi dari protein *Heat Shock* (Zorzi, 2011)

Empat sistem *chaperon* utama adalah *ribosome-associated trigger factor*, Hsp70, Hsp60, dan ATP-ase. Masing- masing dari sistem tersebut memiliki fungsi khusus untuk memastikan lipatan protein target sudah tepat. Masing- masing dari sistem tersebut berikatan dengan daerah yang dekat dengan sisi luar pada subunit besar ribosom. Sedangkan Famili Hsp60 dan famili Hsp10 merupakan protein oligomerik besar yang mengikat protein dengan membentuk ruang isolasi dan terdiri dari kumpulan makromolekul. Ketika protein yang masih terurai terperangkap, maka akan terjadi perubahan konformasi sehingga terbentuk lipatan protein. Sedangkan golongan Hsp70 memainkan peranan paling penting dalam translokasi dan penyusunan protein melalui ikatannya dengan ATP (Bhullar, 2012).



Gambar 2.3 Hsp70 memediasi pelipatan protein (Bhullar, 2012).

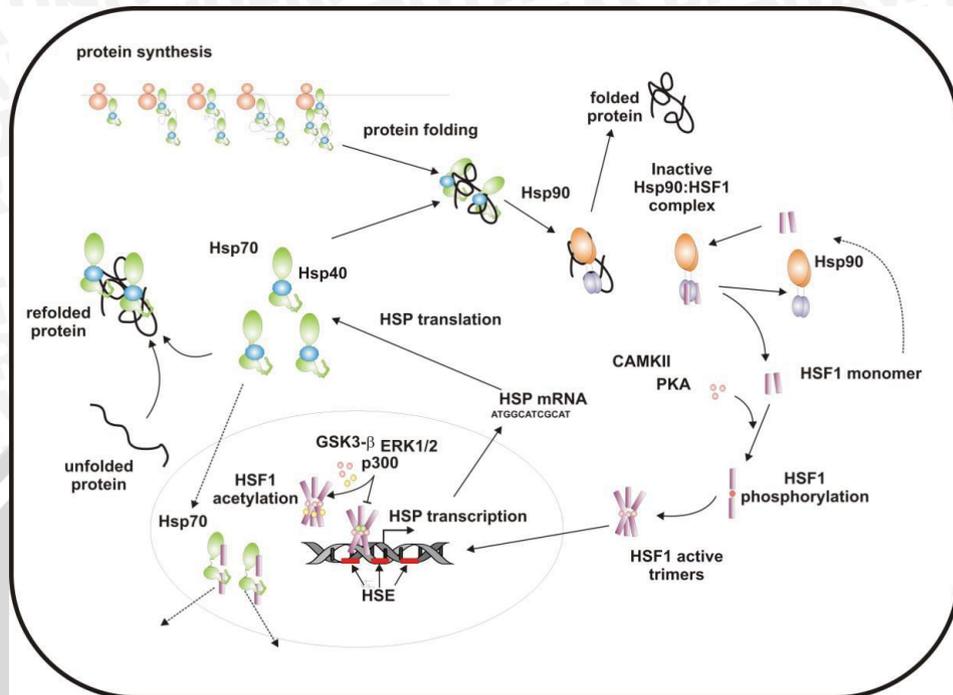
Hsp70 merupakan salah satu golongan protein *chaperon* yang memiliki peran dalam mekanisme perlindungan sel dari berbagai macam perubahan kondisi lingkungan dan fisiologis yang disebabkan oleh toksin eksogen, panas, stres oksidatif, dan iskemia. Fungsi dari protein *chaperon* itu sendiri adalah untuk memperbaiki keseimbangan homeostatis protein. Stres akut dan kronik yang terjadi dapat mengakibatkan terurainya struktur protein (*protein misfolding*), agregasi protein (*protein aggregation*), dan kerusakan kompleks pengaturan. Kebutuhan akan HSP meningkat ketika terdapat kerusakan akibat *proteotoxic*. Hsp70 adalah salah satu Hsp yang memiliki properti sitoprotektif. Overekspresi Hsp70 dapat mencegah kematian sel yang dipicu oleh berbagai macam stimulus, seperti hipertermia, stres oksidatif, penghambatan tirosin kinase oleh staurosporin, ligasi reseptor kematian sel Fas/Apo-1/CDC95 atau adanya obat-obatan sitotoksik. Overekspresi Hsp70 dapat menghambat apoptosis dan mencegah aktivasi *caspase*. Hsp70 juga dapat mengganggu kerja dari agen kemoterapi. Hsp70 juga memiliki fungsi sebagai anti-apoptosis (Cecconi, 2010).

Hsp70 dapat menghambat jalur apoptosis baik pada level mitokondria maupun sesudah mitokondria. Pada level mitokondria, Hsp70 berpasangan dengan Hsp40 memblokir translokasi Bax, mencegah permeabilitas membran luar

mitokondria, menghambat keluarnya sitokrom-c dan molekul apoptogenik mitokondria yang lain seperti *Apoptosis Inducing Factor* (AIF). Pada level sesudah mitokondria, Hsp70 menghambat sitokrom-c dan aktivasi *caspase-3*. Penghambatan pada *caspase-3* dilakukan melalui penghambatannya pada *Caspase Activated DNase* (CAD) dan faktor transkripsi GATA-1. Keduanya merupakan target protein dari *caspase-3*. Hsp70 juga dapat mengikat Apaf-1 secara langsung, mencegah perubahan *procaspase-9* menjadi *caspase-9*.

Beberapa fungsi perlindungan sel yang penting oleh Hsp70 adalah sebagai berikut; 1) memasukan protein ke dalam kompartemen seluler, 2) melipat protein di sitosol, retikulum endoplasma, dan mitokondria, 3) degradasi protein yang tidak stabil, 4) disolusi kompleks protein, 5) kontrol regulasi protein, 6) melipat kembali atau menguraikan protein, 7) translokasi protein perkursor ke dalam mitokondria. Pada kondisi normal, protein Hsp70 berfungsi sebagai molekul *chaperon ATP-dependent* yang bekerja dalam pelipatan polipeptida yang baru disintesis, pembentukan kompleks multi protein dan transport protein melewati membran seluler (Cecconi, 2010).

Pada kondisi stres, Hsp70 mengenali adanya denaturasi, protein metastabil dan menghindari degradasi dini yang tidak diinginkan (pelipatan kembali protein). Ketika terjadi stres, Hsp70 diinduksi oleh aktifitas transkripsional *Heat Shock Factor 1* (HSF1) (Zorzi, 2011).



Gambar 2.4 Sistem *chaperon* protein Heat Shock

Efek HSF1 mendukung kemampuan sel kanker dalam menyebabkan ketidakseimbangan signaling dan perubahan DNA, protein, dan metabolisme energi yang terkait dengan onkogenesis. Melalui mekanisme koordinasi program transkripsional yang disebut dengan respon *heat-shock*. Respon ini tidak hanya mampu menginduksi Hsp70 dalam mengembalikan lipatan protein menjadi normal, namun juga mengganti jalur signal dan memodulasi metabolisme untuk meningkatkan pertahanan sel kanker (Whitesell , 2009).

Pada beberapa kanker menunjukkan adanya peningkatan ekspresi Hsp70. Salah satunya adalah kanker payudara dimana ekspresi Hsp70 menjadi sangat tinggi secara abnormal. Pada sel MCF-7 kanker payudara, Hsp70 terekspresi lebih tinggi jika dibandingkan dengan sel normal. Adanya ekspresi Hsp70 yang berlebihan dapat meningkatkan pertumbuhan sel kanker payudara dan potensial metastase (penyebaran kanker ke bagian tubuh yang lain). Sifat

Hsp70 yang sitoprotektif juga menjadikannya berfungsi sebagai anti apoptosis pada sel kanker (Rérole, 2011).

2.6 Tinjauan Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)

2.6.1 Taksonomi



Gambar 2.5. Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Mustafa, 2003)

Divisi	: Spermatofit	Famili	: Moringaceae
Sub divisi	: Angiospermae	Genus	: Moringa
Kelas	: Dikotil	Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>
Ordo	: Brassica		Lamk.

2.6.2 Persebaran

Tanaman kelor merupakan tanaman yang berasal dari daerah sekitar Himalaya dan India, kemudian menyebar ke kawasan di sekitarnya hingga ke benua Afrika dan Asian Barat. Saat ini, kelor banyak dibudidaya di Afrika,

Amerika Selatan dan Tengah, Sri Lanka, India, Mexico, Malaysia, Indonesia, dan Afrika (Paliwal *et al.*, 2011).

2.6.3 Kandungan Kimia dan Efek Farmakologis

Tumbuhan kelor memiliki rasa agak pahit, bersifat netral, dan tidak beracun. Bahan kimia yang terkandung pada kelor yaitu *myrosine*, *emulsine*, alkaloida dan vitamin (A,B1, B2, serta C). Efek farmakologis yang dimiliki oleh kelor diantaranya anti-inflamasi, antipiretik, dan antiskorbut. Semua bagian tanaman kelor dapat digunakan sebagai obat, namun bagian daunnya memiliki nilai nutrisi yang tinggi seperti vitamin A, vitamin C, kalium, protein, kalsium dan besi. Pada bagian daun juga terdapat kandungan fitokimia seperti karotinoid, alkaloid, flavonoid, dan kaya akan kandungan asam amino seperti, cystine, lisin, metionin, triptofan dan niazimicin. Pada bagian daun juga terdapat flavonoid quercetin-3-O-glucoside dan kaempferol-3-O-glucoside yang berperan sebagai antioksidan dalam melawan radikal bebas. Dengan demikian, flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel dan meningkatkan apoptosis sel kanker. (Tiloke, *et al.*, 2013). Selain itu, secara *ethnomedicine* daun kelor telah terbukti memiliki khasiat antikanker (Balachandran dan Rajgopal, 2005).

Pada kanker payudara terjadi peningkatan level Hsp70 sehingga sel tidak dapat apoptosis dan terus melakukan pembelahan. Oleh karena itu dibutuhkan penekanan terhadap ekspresi Hsp70 yang berlebihan. Daun kelor memiliki komponen utama Flavonoid yang berperan sebagai antioksidan seperti quercetin-3-O-glucoside dan kaempferol-3-O-glucoside. Flavonoid quercetin (3,3',4',5,7- pentahydroxyflavone) adalah Hsp70 inhibitor yang dapat menunjukkan efek penurunan ekspresi Hsp70 melalui penghambatan fosforilasi

HSF1 dan aktifitas transkripsional. Selain itu flavonoid quercetin dapat menghambat ekspresi dan aktifitas protein kinase yang berperan dalam pertumbuhan dan pertahanan sel kanker seperti aktifitas transkripsional HSF1 yang rendah dan ekspresi Hsp70 yang berlebihan. Sehingga dengan pemberian daun kelor yang kaya antioksidan flavonoid, diharapkan dapat menurunkan proliferasi dan meningkatkan apoptosis sel kanker payudara melalui penghambatan overekspresi dari Hsp70 (Zorzi, 2011).

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan, penarikan atau pengeluaran suatu komponen berdasarkan perbedaan kelautannya. Ekstraksi umumnya menggunakan pelarut yang dapat melarutkan komponen yang diinginkan. Dalam hal penyediaan ekstrak, pemilihan metode ekstraksi yang sesuai merupakan hal kunci yang harus diperhatikan (Mahdi, 2010).

Terdapat dua macam metode ekstraksi yaitu cara dingin (maserasi dan perkolasi) dan cara panas (refluks, sokletasi, infusa, dekokta). Maserasi adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang digunakan untuk merendam simplisia dalam suhu kamar dapat dibantu dengan pengadukan secara konstan. Hasil dari maserasi disebut maserat (hasil maserasi). maserat disaring, dan sisa simplisia (residu) diekstraksi kembali dengan menambahkan pelarut yang baru dengan cara yang sama seperti diatas. Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut hingga semua pelarut tertarik dengan sempurna (exhaustive extraction) yang dilakukan pada suhu kamar. Proses keberhasilan ekstraksi dengan cara perkolasi dipengaruhi selektifitas pelarut, kecepatan alir

pelarut dan suhunya, ukuran simplisia tidak boleh terlalu halus, karna dapat menyumbat pori-pori saringan perkolator (Mahdi, 2010).

Refluks adalah proses ekstraksi dengan pelarut yang dididihkan beserta simplisia selama waktu tertentu dan jumlah pelarutnya konstan. Pelarut terus bersirkulasi didalam refluks hingga didapat proses ekstraksi sempurna. Sokletasi adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dengan menggunakan soxhlet. Ekstraksi terjadi secara berkesinambungan dengan jumlah pelarut yang konstan (Mahdi, 2010).

Menurut Vongsak (2013), mempertimbangkan berbagai faktor yang terlibat dalam proses ekstraksi, metode ekstraksi maserasi dengan etanol 70% adalah yang paling menguntungkan untuk ekstraksi flavonoid total dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada daun kelor. Selain itu maserasi juga lebih menguntungkan dari segi biaya dan kesederhanaan dibandingkan dengan metode lain.

